

STANOVENÍ A INTERPRETACE KONCENTRACE KETONŮ V MLÉCE

Hanuš, O.- Genčurová, V.- Vyletělová, M.- Manga, I.
Výzkumný ústav pro chov skotu, Rapotín

Investigation and interpretation of ketone concentration in milk

Abstrakt

Podle ketonů (aceton, beta-hydroxybutyrát) v mléce lze poměrně spolehlivě, metodou neinvazivního monitoringu, posuzovat a kontrolovat výživu a zdravotní stav dojníc. Ketony jsou produktem tukového katabolismu v počátku laktace v době energetického nedostatku. Ketony jsou považovány za nežádoucí metabolity. Ketózy zhoršují dojivost a plodnost krav, které mohou i uhynout. Mléko, na rozdíl od krve nebo moče je snadné pro vzorkování. Ketony lze stanovit jednoduchými stájovými testy, fotometrickými metodami a pravděpodobně také metodou infraanalýzy MIR-FT. Pravidelná znalost obsahů ketonů v mléce může rozhodovat o účinnosti preventivních, nápravných nebo léčebných opatření v chovech a o možnostech zajištění kvality mléčného potravinového řetězce. Může být proto efektivním postupem v praxi, který podpoří dobré welfare a zdravotní stav zvířat, jejich plodnost, užitkovost a tím i ekonomické výsledky chovu.

Klíčová slova: zdravotní stav krav, výživa, ketóza, mléko, monitoring, prevence

Abstract

Ketones in milk (acetone and beta-hydroxybutyrate) are suitable for confident noninvasive monitoring and control of dairy cow nutrition and health state. Ketones are product of fat catabolism in the start of lactation in time of energy malnutrition. They are seen as undesirable metabolites. Ketosis reduces milk yield and reproduction performance of cows, which can also die. Milk in contrast to blood or urine is very easy for the sampling. It is possible to investigate the ketones via easy stable tests, photometrical methods and possibly also by milk infraanalyse MIR-FT. A regular knowledge about milk ketone concentration can decide about efficiency of correction, preventive or treatment measures in the cow herds and about the possibilities

of assurance of milk food chain quality. Therefore, it can be effective procedure in the practice, which will support good animal welfare and health, their reproduction performance, milk yield and also herd economical results.

Key words: cow health state, nutrition, ketosis, milk, monitoring, prevention

Ketóza jako produkční onemocnění

Ketóza reprezentuje metabolické onemocnění, které se vyskytuje hlavně u vysoce produktivních dojníc. Základní problém ketóz spočívá v deficitu glukosy v krvi a tkáních, který spolu s nedostatkem vhodných uhlovodíků v krmné dávce vede k odbourávání lipidů v játrech. Zvýšený metabolismus jater vede ke zvýšení hladin vedlejších produktů - ketolátek v krevním séru a následně i v mléce dojnice. Ketózy všeobecně jsou v období vzniku tzv. "energetické díry" resp. negativní energetické bilance po otelení způsobené vyšším výdejem živin laktací z organismu oproti nižšímu přívodu. Jsou charakterizovány odbouráváním tělesných energetických (především tukových) rezerv. Tento jev může vést až k poklesu metabolické funkce jater, ale průběžně právě ke vzrůstu obsahu ketonových látek v tělních tekutinách. Obsah ketolátek (acetonu, acetoacetátu a BHB (beta-hydroxybutyrátu) v individuálních vzorcích mléka je tedy indikátorem zdravotního stavu dojníc po porodu a v první třetině laktace ve smyslu výskytu produkčního onemocnění, ketóz. Některé ketony mohou být dále metabolizovány, jiné (např. aceton) odcházejí z organismu zpravidla močí, dechem, potem a mlékem. Ketóza vzniká především u dojníc s vysokou dojivostí a vykazuje plíživý charakter nástupu a setrvačnost průběhu. V průběhu ketózy je redukována dojivost i obranyschopnost (riziko zvýšeného výskytu nových mastitidních infekcí) a zhoršena plodnost krav. Mnohé výše zmíněné jevy jsou v omezenějším rozsahu pozorovány i u volně žijících savců. U hospodářských zvířat se zaměřením na vysokou užitkovost se uvedené procesy mohou nicméně vymykat kontrolním a regulačním mechanismům organismu. Dojde k onemocnění ketózou zpravidla nejdříve v subklinické a posléze klinické formě. Kromě dalších příznaků může onemocnění vyústit i v úhyn zvířete. Léčba je nezbytná, avšak s důsledky všech ztrát nákladná.

Miettinen (1994) našel negativní korelaci mezi koncentrací acetonu v mléce a mléčnou užitkovostí. U neklinicky ketózních krav byla kalkulována ztráta mléčné užitkovosti v důsledku zvýšení acetonu v mléce na 2 až 9 % a u klinicky ketózních krav na 26 a více %. Leslie (1999) je v této

INFORMACE

FONTERRA EDENDALE - NEJVĚTŠÍ SVĚTOVÝ ZPRACOVATELSKÝ ZÁVOD

Mlékárenský zpracovatelský závod Fonterra Edendale na Novém Zélandu se stává největším světovým závodem. Závod byl projektován na stále rostoucí mléčnou produkci na jižním ostrově za 212 milionů NZ \$ (100,9 m €). Možné rozšíření kapacity je až na 27 tun sušeného mléka za hodinu.

Závod bude schopen zpracovat až 15 mil. litrů mléka za den.

Dairy Ind. Int. 74, 2009, č.9 /ben/

souvislosti názoru, že existuje stále více svědectví dokládajících, že většina mléčných stád by profitovala z rutinního monitorovacího programu pro subklinické ketózy, neboť pozitivní test má dobrou předpovědní hodnotu pro blížící se problémy. Použitelnost stádového kontrolního programu je nejvíce ovlivněna citlivostí a pozitivní predikční hodnotou testu stejně jako náklady na test.

Prevence je významná, neboť frekvence výskytu ketóz ve výživově problémových stádech může dosahovat v první třetině laktace až 13 %, subklinických pak až 34 %. Frekvence ketóz celkem v běžném stádě činí cca 4 %, v problémovém stádě až 8 % z právě laktujících krav (Kauppinen, 1983; Unglaub, 1983; Andersson a Emanuelson, 1985; Šrámek et al., 1992; Hanuš et al., 1999; Rasmussen et al., 1999).

Analýzy ketonů v tělních tekutinách, zejména mléce

Aby byl poskytnut efektivní diagnostický prostředek, byl vyvinut mléčný test Ketotest pro usnadnění monitoringu a řízení prevence ketóz. Cílem bylo usnadnit identifikaci subklinické ketózy. Za předpokladu platnosti vztahů uvedených v pracích Bergman (1971), Andersson (1984), Andersson a Lundström (1984), Vojtíšek (1986) a Hlásný (1995) lze z výsledků odhadovat, že poměr mezi obsahy acetonu v mléce a moči, daný fyziologicko-patologickými principy a jejich vzájemnými poměrovými kombinacemi, může být, v závislosti na zdravotním stavu organismu, cca 1 : 10 až 1 : 35. Uvedené, při limitu subklinické ketózy 10 mg/l acetonu v mléce, odpovídá 100 až 350 mg/l acetonu v moči. Tolikrát nižší koncentrace v mléce je specifickým konstrukčně-technologickým problémem pro dosažení potřebné citlivosti mléčných testů pro ketózy, resp. na ketony nebo aceton. Proto mnohé snahy o získání takové citlivosti nebyly úspěšné s výjimkou několika málo diagnostik včetně Ketotestu. Bylo nezbytné vynést barevnou nitroprusidovou reakci zamlženou v koloidním roztoku mléka na pevný podklad pro její zviditelnění, čehož bylo mimo jiné dosaženo precipitací mléčných proteinů na povrchu reakční směsi reagentie a plnidla s mlékem (Jílek 1999). Korelace mezi výsledky Ketophanu v moči a Ketotestu v mléce činila 0,87 ($P < 0,001$; Hanuš et al., 2001).

Přes uvedené výsledky by bylo velmi efektivní vyvinout rychlou, kvantitativní analytickou metodu s věrohodnými výsledky pro sériové analýzy individuálních vzorků mléka v rámci rutinní kontroly mléčné užitkovosti. To by při dané operativě a možnostech při organizaci prevence, případně vhodných nápravných opatření ve výživě, nesporně vedlo k podpoře zdravotního stavu dojníc, zlepšení jejich reprodukčních vlastností a zajištění vyšší kvality syrového mléka jako potravinářské suroviny. Enjalbert et al. (2001) uvedli, že určení beta-hydroxybutyrátu v mléce enzymatickou analýzou nebo proužkovým testem Ketolac poskytuje hodnotné výsledky s prahovou koncentrací 70 až 100 mikromol/l. Kladně hodnotili praktickou jednoduchost Ketolacu.

Roos et al. (2006) hodnotili na základě odečtu acetonu, acetacetátu a beta-hydroxybutyrátu v individuálních vzorcích mléka pomocí kalibrované infračervené metody MSc FT 6000 (MIR-FT) sensitivitu (70 %), specifitu (95 %) a procento falešně pozitivních (27 %) a falešně negativních (7 %) odečtů s ohledem na schopnost metody k identifikaci stavu subklinické ketózy dojníc. Výzkum aplikace metody byl tak označen za ještě vhodný pro praktický monitoring onemocnění. Práce s identifikací acetonu nebo ketózy v mléce pomocí kalibrované infračervené spektroskopie na principu MIR-FT provedli rovněž Hansen (1999), který zjistil u vzorků kolísajících od 0,0 do 2,8 mM acetonu a při koeficientu determinace 0,81 a správnosti 0,27 mM uspokojivou přesnost pro klasifikaci dojníc do dvou skupin, zdravá a pravděpodobně ketózní, a Heuer et al. (2001), zde byl zjištěn threshold (práh) pro subklinickou ketózu v hodnotě od 0,4 do 1,0 mM. Myšlenku monitorovat ketózy systematicky a automaticky ve stádech dojníc v on-line systémech prostřednictvím měření hladin ketonů nebo acetonu (v mléce nebo ve vydechaném vzduchu) pomocí vestavěných biosenzorů prosazovali Mottram (1996), Mottram a Masson (2001) a Mottram et al. (2002).

Efektivitu MIR-FT uvedenou autory Roos et al. (2006) by však bylo účelné zlepšit vývojem účinnější metody. Proto postup vhodné modifikace kalibrace MIR-FT (metoda jak vytvořit kalibrační sadu s relevantním variačním rozpětím pro docílení přijatelných statistických charakteristik kalibrace, zda na mléce nativním a jak toto selektovat nebo s umělými přísadami ketonů, jak kontrolovat opakovatelnost a recovery, specifikovat a limitovat přijatelné statistické parametry kalibrace) by měl ještě být předmětem dalšího výzkumu pro možné zvýšení identifikační účinnosti metody MIR-FT. Běžná fotometrická mikrodifúzní metoda (MFM) se salicylaldehydem (Vojtíšek, 1986; Hanuš et al., 1993, 1999, 2001) nemůže v tradičním designu naplnit požadované ukazatele efektivity pro praktické nasazení v kontrole užitkovosti ve smyslu výkonnosti.

Možnosti interpretace výskytu ketonových látek v mléce s ohledem na zdravotní stav a ostatní zootechnické faktory

Existující variabilita obsahu acetonu v mléce samozřejmě není určována pouze stavem energetické bilance organismu krav i když tento vliv je pravděpodobně nejvýznamnější. Existovaly alimentárně podmíněné vyšší zimní sezónní hladiny ketonových látek oproti letním v důsledku zkrmování větších dávek ketogenních krmiv, zejména méně kvalitních siláží (Rauramaa a Rajamäki, 1988; Kvíz a Hofman, 1990). Hanuš et al. (1993) zaznamenali např. v netradičním sledování obsahů acetonu v bazénových vzorcích mléka významný rozdíl v zimních a letních hladinách ($5,8 \pm 4,7 > 4,4 \pm 2,4$ mg/l; $P < 0,001$; $n = 134$ a 224). Pohyb dojníc na pastvě a ve volném ustájení zřejmě vede k lepšímu metabolismu a odbourávání tuků i ketonových látek, případně lepší exkreci acetonu, takže problémy s výskytem ketóz a vyšších hladin ketonů resp. acetonu

v mléce jsou za těchto technologických okolností nižší. Pokud se jedná o mezidruhové rozdíly mezi kravami a malými přežvýkavci, byly koncentrace acetonu v mléce převážně statisticky významně rozdílné. U krav byly průměrně zjištěné hodnoty od 2,03 do 6,10, u malých přežvýkavců poněkud vyšší od 6,10 (kozy) do 11,10 mg/l (ovce). U všech druhů je variabilita původních hodnot poměrně vysoká a pohybovala se od 53,7 % (u krav, Holštýn) přes 65,3 a 68,2 % (krávy České strakaté a ovce Cigája) do 105,5 % (kozy, Bílá krátkosrstá) za konkrétních podmínek sledování (Genčurová et al., 2008).

Názory na kritickou diskriminační hodnotu obsahu acetonu v mléce, resp. limit pro určení subklinické ketózy se značně různí od 4 do 40 mg/l (Emery et al., 1964; Unglaub, 1983; Andersson a Emanuelson, 1985; Gravert et al., 1986; Vojtíšek, 1986; Kvíz a Hofman, 1990; Gustafsson a Emanuelson, 1993; Hanuš, 1994). Obě mezní hodnoty se však jeví být přehnané. Horní nad-, resp. dolní podhodnocena. Na základě předchozích praktických zkušeností a vlastních experimentálních výsledků (Hanus, 1994; Hlásný, 1995; Hanuš et al., 1999) lze považovat za diskriminační hladiny pro odhad subklinické ketózy přibližně následující limity: Ketophan (ketony v moči) >3+ (>7,5 mmol/l); Ketotest (ketony v mléce) >2+ (>15 mg/l); aceton v mléce >10 mg/l. I když v případě semikvantitativních testů nemohou být používané hranice zcela ostré, v praxi vyhovují zamýšlenému účelu.

Říha a Hanuš (1998, 1999) zachytili plynulé zhoršování reprodukčních ukazatelů (servis perioda o 19 dní, kde $P < 0,05$ při $n = 633$; inseminační index o 0,27, kde $P = 0,08$ při totožném n) dojníc při zvyšování koncentrace acetonu v mléce, kdy stavy již odpovídaly projevům závažnější subklinické a klinické ketózy (>20 mg/l). Také Waldmann et al. (2003) předpověděli vzrůst pravděpodobnosti opakované inseminace při vzrůstu koncentrace acetonu v mléce při inseminaci.

Vzhledem k charakteru průběhu ketózního onemocnění dojníc a vzhledem ke skutečnosti, že subklinické formy (bez zjevných příznaků) jsou ekonomicky nebezpečnější (vyšší frekvence výskytu a nepozorovatelnost) než klinické (se zjevnými příznaky u zvířat) je důležitá včasná diagnostika onemocnění. Indikační schopnosti metod stanovení ketonů lze vhodně využít k monitoringu ketóz ve stádě a k zavádění protiketózních opatření (Emery et al., 1964; Jagoš et al., 1981; Kolouch et al., 1991; Vojtíšek et al., 1991; Illek a Pechová, 1997, 1998) jak preventivních (v případě náznaku subklinických stavů, prostřednictvím operativních změn ve výživě dojníc, aplikace ostropestřece mariánského, propylenglykolu atp.) tak terapeutických (v případě záhytu závažnějších subklinických nebo klinických stavů, kdy jsou již patrné zevní příznaky na zvířeti, aplikace glukózy, inzulinu atp., Sakai et al., 1993). Je důležité vést o výsledcích monitoringu ketóz a provedených opatření včetně jejich účinnosti pravidelné záznamy.

Vojtíšek et al. (1991) zkrmovali v peripartálním období (2 týdny) kravám ke krmné dávce 0,3 kg šrotu/den Ostropestřece mariánského se známými hepatoprotektivní-

mi účinky obsaženého silymarinového komplexu (Kolouch et al., 1991). Zaznamenali v tomto experimentu pokles stupně ketonurie krav a pokles acetonu a kyseliny octové v krvi a mléce pokusných krav oproti kontrolním, včetně zvýšení jejich mléčné produkce. Podobně zdokumentovali Green et al. (1999) příznivý účinek aplikace kapsulí Monensinu (uvolňujících 335 ± 33 mg/den) v podobě redukce hladiny beta-hydroxybutyrátu v krvi (o 35 %), současného vzrůstu koncentrace glukózy v krvi (o 15 %) a tím omezení uměle indukovaného ketózního stavu dojníc.

Prevence je tedy efektivnější cestou eliminace výskytu ketóz než léčba. Součástí prevence je monitoring stavu dojníc po otelení, ke kterému slouží právě stanovení koncentrace ketolátek nebo acetonu v tělních tekutinách. Vhodné je zejména mléko ve smyslu odběru vzorků. Ketózu lze kontrolovat rovněž vyšetřením vzorků moči jako tzv. ketonurii. Tento přístup je však z hlediska způsobu odběru vzorku řazen do metod invazivního monitoringu, který je profesionálně náročnější. Analýza vzorků mléka je označována jako neinvazivní monitoring, který je bez problémů chovateli kdykoliv dostupný. To je výhoda oproti ostatním tělním tekutinám. Taková cesta je pak neriziková, levnější a umožňuje četné kombinace a další výhody.

Pomocí mléčných ketotestů pozorovali Geishauser et al. (1997, 1998) souvislost mezi zvýšeným výskytem ketóz (resp. vyšších hladin ketonů v krvi) a korespondujícím vyšším výskytem levostranné dislokace slezu. Toto obtížně diagnostikovatelné produkční onemocnění je zpravidla způsobováno dietetickými faktory, zejména při značných dávkách jadrného krmiva v souvislosti s vysokou mléčnou užitkovostí. Pravděpodobně z uvedeného důvodu může být nejvyšší frekvence výskytu pozorována u dojníc plemene Holštýn. Náprava úpravou diety je nejistá, operativní zákrok v praxi obtížný a hrozí současně i riziko úhynu zvířete. Podle uvedených výsledků je zřejmé, že prevence zaměřená na omezení výskytu ketóz je i zároveň prevencí proti riziku tohoto onemocnění.

Sporadicky byla uvedena dědivost obsahů acetonu v mléce (Brandt et al., 1985; Gravert et al., 1986) na úrovni 0,09 až 0,17, tedy poměrně nízká. Rovněž heritabilita hyperketonémie (Emanuelson a Andersson, 1986) byla podobná (3 až 7 %). Totéž platí pro klinickou ketózu, 9 a 7 % (Mäntysaari et al., 1991). Proto byla doporučena další šetření (Gravert et al., 1986). Diekmann (1987) dále doporučil využívat v budoucnu obsahu acetonu v mléce dojníc na počátku laktace, kromě zjišťování deficitu energie, také jako nepřímého ukazatele ke šlechtění skotu na schopnost příjmu krmiv. Důvodem bylo, že zjistil významné negativní korelace (-0,42) mezi příjmem energie a obsahem acetonu v mléce v počátku laktace a významné pozitivní korelace (0,29 až 0,49) mezi deficitem energie a obsahem acetonu v mléce. Uvedené vysvětlilo 40 % variací v negativní energetické bilanci. Dojnice s vysokým obsahem acetonu v mléce trpěly v postpartálním období až dvanáctidenní negativní energetickou bilanci, zatímco dojnice s nízkým obsahem acetonu pouze pětitedenní.

Vyšší hodnoty acetonu v mléce byly prezentovány pro stáda

s vyšší dojivostí u plemene České strakaté, což se nepotvrdilo u plemene Holštýn v České republice ($2,10 > 1,38$ a $1,45 < 1,95$ mg/l; (Janů et al., 2007 a Hanuš et al., 2007). Podle posledních ještě nepublikovaných výsledků (Hanuš et al., 2008) jsou pro ekologické farmaření typické vyšší hodnoty acetonu v mléce krav ve srovnání s chovy konvenčními ($6,8 > 1,6$ mg/l) a ukázaly tak na trvalý energetický nedostatek ve výživě ekologických stád. Dále byla registrována významná korelace mezi koncentrací acetonu v mléce krav a poměrem tuk/bílkoviny v hodnotě 0,33. Uvedené může mít význam zejména při zpřesnění sofistikovaného modelu interpretace výsledků složení mléka a koncentrace ketonů v mléce při praktické aplikaci měření v rutinní kontrole mléčné užitkovosti (software expertního systému). Pokud se týká mléka malých přežvýkavců, podobný trend vztahu byl potvrzen u ovcí, ale nikoliv u koz (Hanuš et al., 2008).

Rizikost zvýšených hladin ketonů v mléce pro jeho kvalitu jako potravinářské suroviny

Kvalita mléka od dojníc s metabolickými problémy je zhoršena. V subklinických případech takové mléko nelze ve stáji z dodávky rutinně vyřazovat narozdíl od subklinických mastitid. Bez této možnosti eliminace se dostává do mlékárny. Zde může metabolicky zatížené mléko ohrožovat kvalitu průběhu mlékárenských technologií. Korelace acetonu k jogurtovému testu činila -0,21 (Hanuš et al., 1993). Byla však spíše dána souběžně změnami ostatními vlastnostmi mléka, než samotnou zvýšenou koncentrací acetonu.

Při vyhodnocování souborů dat o ketonech v tělních tekutinách, zejména v individuálních vzorcích mléka, je nezbytné použít nějakou formu matematických transformací pro pravidelnou existenci nenormální frekvenční distribuce v takových materiálech (Hanuš et al., 2001). Vhodné jsou medián nebo geometrický průměr jako primární reprezentativní statistické momenty datových souborů, pokud si přejeme pragmaticky zůstat v oboru původních reálných čísel měřených dat tak, aby výsledky byly srozumitelné při interpretaci pro praktické uživatele. V opačném případě je nutná aplikace neparametrických testů (chí-kvadrát, znaménkový test, Wilcoxonův test) a v případě hodnocení vzájemných vztahů k ostatním mléčným ukazatelům např. Spearmanův koeficient pořadové korelace. Klasické statistické testy hypotéz a základní statistické parametry jsou použitelné pouze u bazénových vzorků mléka, tyto však mají zase nižší vypovídací schopnost vzhledem ke zdravotnímu stavu krav.

Závěr pro případný další výzkum.

Základní hypotéza projektu pro zlepšení interpretace ketonů v mléce by mohla být: "Pokud by bylo vývojem dosaženo dostatečně efektivní a věrohodné metody pro sériové analýzy ketonů v mléce, pak by při rutinním nasazení této metody v kontrole užitkovosti bylo možno pomocí zlepšených interpretačních pravidel a prevence docílit lepší zdravotní stav dojníc, jejich lepší reprodukci a kvalitnější

mléko pro potravinářské zpracování. Tato cílená intervence do metodických postupů kontroly užitkovosti by zvýšila její efektivitu i finanční stabilitu a prospěla by provozní jistotě chovatelů dojníc i bezpečnosti mléčného potravinového řetězce. Cílem takového projektu pak: Vyvinout účinnější metodu stanovení ketonů v individuálních vzorcích mléka pro účely kontroly užitkovosti dojníc; analyzovat příčinné faktory variability ketonů v mléce; zlepšit praktické interpretační postupy pro variabilitu výskytu ketonů v mléce v postupu kontroly mléčné užitkovosti dojníc; posoudit vliv ketonů na kvalitu potravinové suroviny a navrhnout postupy k zamezení případného rizika.

Použitá literatura je dostupná u autorů.

Príspevek byl podporován prostředky pro řešení projektů, NAZV, 1G46086 a MŠMT - CZ.1.07/2.3.00/09.0081.

Přijato do tisku 23. 2. 2010

Lektorováno 8. 3. 2010

SLEDOVÁNÍ FYZIOLOGICKÝCH A BIOCHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ LISTERIA MONOCYTOGENES IN VITRO

Marta Pechačová, Jitka Peroutková, Irena Němečková, Gabriela Kunová, Petr Roubal

MILCOM a.s., Praha

Monitoring of physiological and biochemical properties *Listeria monocytogenes* in vitro

Abstrakt

U izolovaných kmenů *Listeria monocytogenes* byla zjišťována schopnost přežít v různých podmínkách. Testována byla odolnost vůči žlučovým solím a nízkému pH. Tyto vlastnosti jsou rozhodující pro přežití v trávicím traktu. Byla otestována citlivost vůči dvěma humánním antibiotikům používaným k léčbě. Další provedené testy simulovaly podmínky používané v mlékárenské technologii tj. odolnost k vysoké koncentraci NaCl, termizačnímu a pasteračnímu záhřevu a test pohyblivosti bakterií. K modelovým pokusům byly použity tyto matrice vzorku: bujon BHI, smetana 32 g tuku /100 g, odstředivkový tvaroh (sušina 18 g/100 g, pH 4,90)

Abstract

Isolated strains of *Listeria monocytogenes* were tested at various conditions, it was examined their survive ability. It was tested tolerance to bile salt and low acidity, these properties are deciding for survival in intestinal tract. Another performed experiments simulated conditions used in a dairy technology such as tolerance to high concentra-